

脳部位別組織中ピペコリン酸の 簡便な高感度蛍光 HPLC 分析法

井上裕文、阪田安彦、西尾廣明、徳毛孝至、小嶋英二郎、
伊達有子、田村 豊、鶴田泰人

Biological and Pharmaceutical Bulletin, **34**(2), 287-289 (2011)

A simple and highly sensitive HPLC method with fluorescent detection for determination of pipercolic acid in mouse brain areas

H. Inoue, Y. Sakata, H. Nishio, Kohji Tokumo, E. Kojima,
Y. Date, Y. Tamura, Y. Tsuruta

ABSTRACT: A simple and highly sensitive high-performance liquid chromatography method for the determination of pipercolic acid in mouse brain areas was developed. After homogenization of brain and pretreatment with o-phthalaldehyde, the pipercolic acid and (2S,3S)-3-methylpyrrolidine-2-carboxylic acid (internal standard) were derivatized with 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride at 70 °C for 15 min in basic medium (pH 9.0). The fluorescent derivatives of pipercolic acid and internal standard were separated on a reversed-phase column by stepwise elution using acetic acid (30mM) –acetonitrile at 50°C and detected by fluorescence measurement at 316 nm (excitation) and 403 nm (emission). The detection limit (signal-to-noise ratio=3) of pipercolic acid was 13 fmol per injection. The recovery was about 106.7%. The precision (relative standard deviation) was 3.2%.

抄録 脳部位別組織中ピペコリン酸の簡便な高感度蛍光 HPLC 分析法を開発した。脳試料をホモジネートし、オルトフタルアルデヒドで処理したのち、ピペコリン酸及び内標準物質は 4-(5,6-ジメトキシ-2-フタルイミジンル)-2-メトキシフェニルスルホニルクロリドによりホウ酸塩緩衝液 (pH 9.0) の存在下、70°C、15 分間で誘導体化された。ピペコリン酸及び内標準物質の蛍光誘導体は逆相系カラム (50°C) を用いた酢酸 (30 mM) - アセトニトリルのステップワイズ溶出法により分離され、励起波長 316 nm、蛍光波長 403 nm における蛍光で検出された。ピペコリン酸の検出限界は注入量あたり 13 fmol (S/N = 3) であった。添加回収率は 106.7% であった。繰り返し精度 (相対標準偏差) は、3.2% であった。